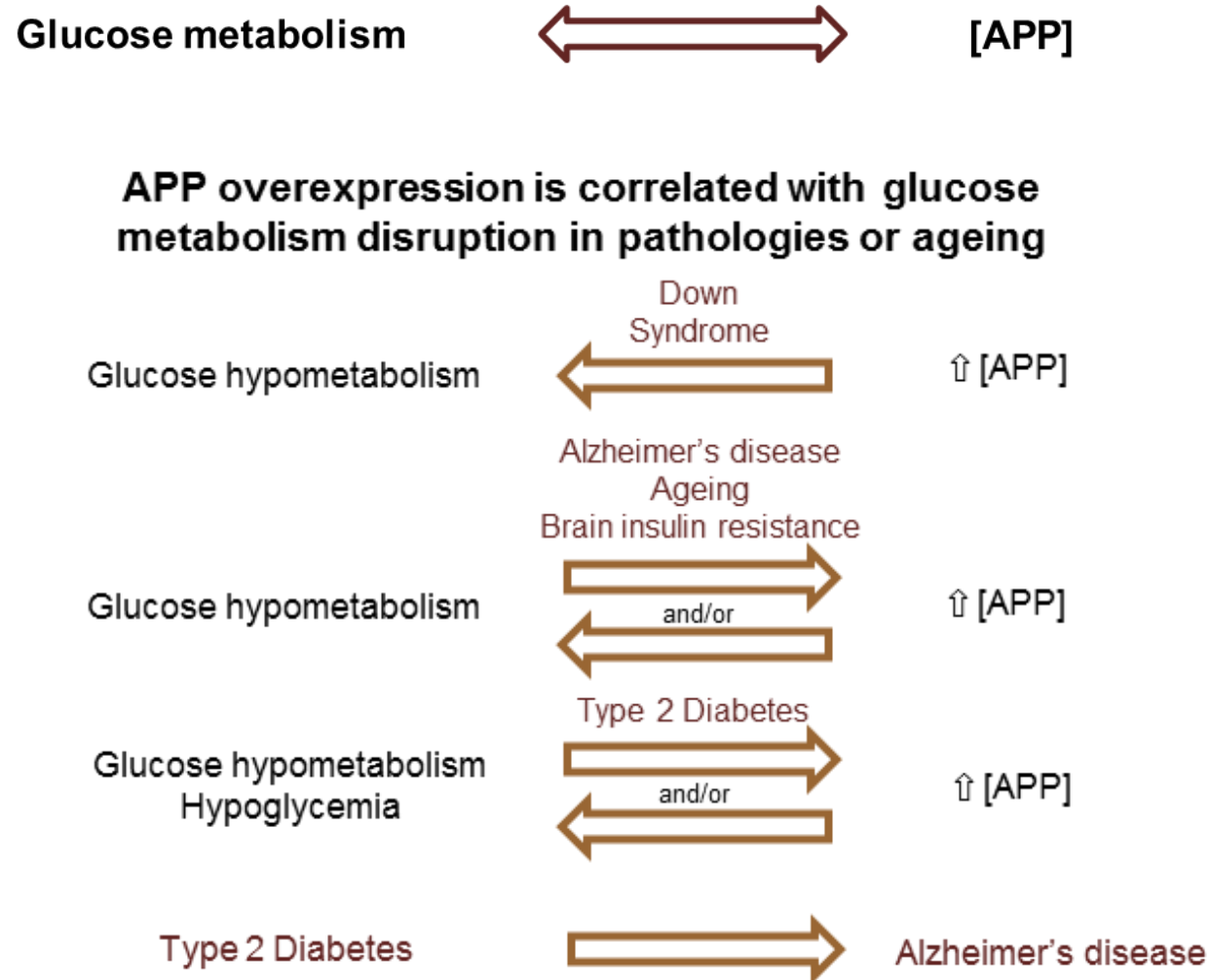


Working hypothesis and mouse model

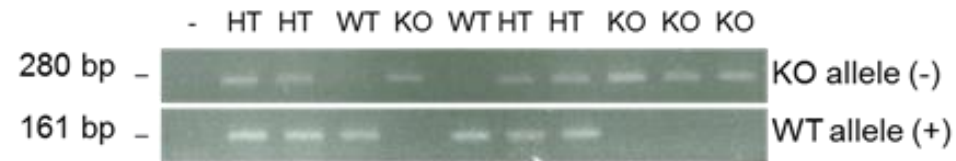


Working hypothesis and mouse model

Glucose metabolism $\longleftrightarrow$ [APP]

What are the effects of APP underexpression on hippocampus glucose metabolism ?

Genotype		Level of expression
WT	+/+	Normal expression
HT	+/-	Half expression
KO	-/-	No expression



Advantages

- Allowing to study the physiological roles of APP and the importance of its expression level
- Excluding the role of A β oligomerization

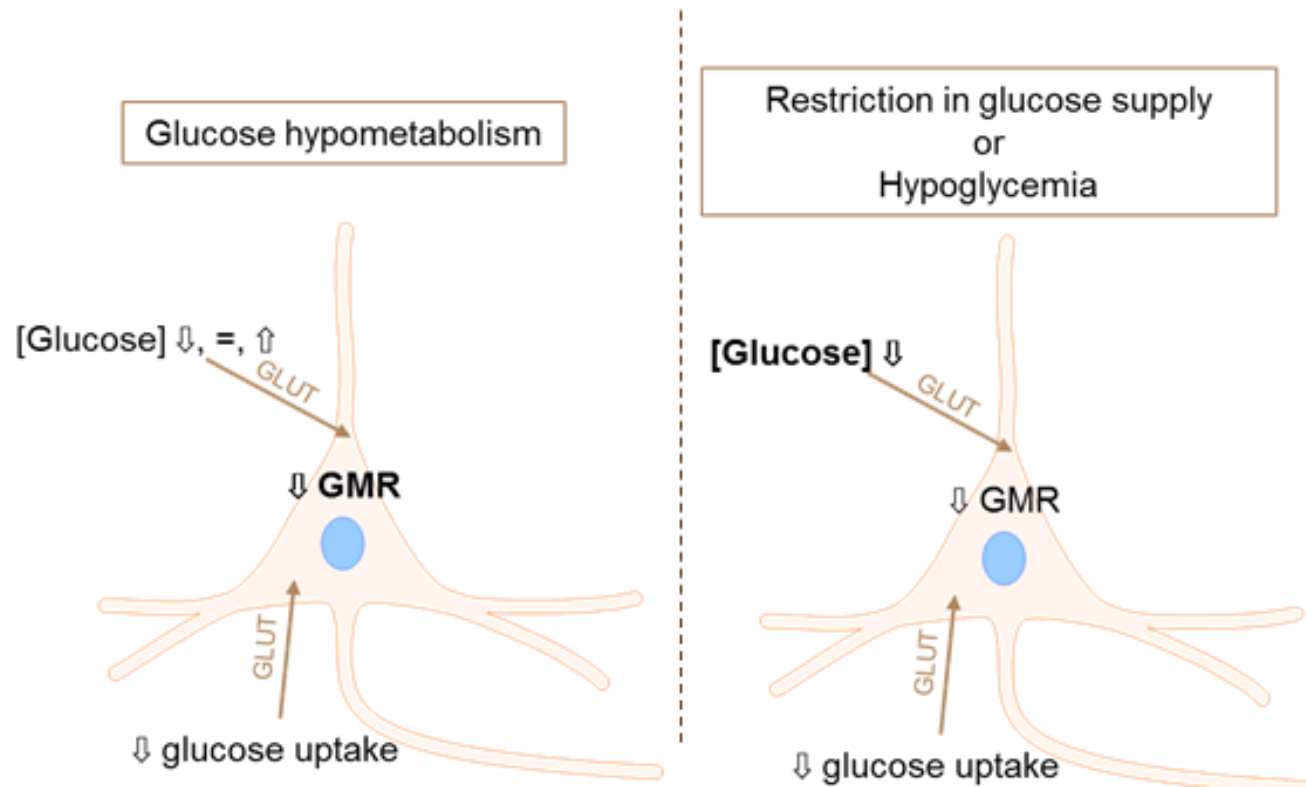
Working hypothesis and mouse model

Glucose metabolism



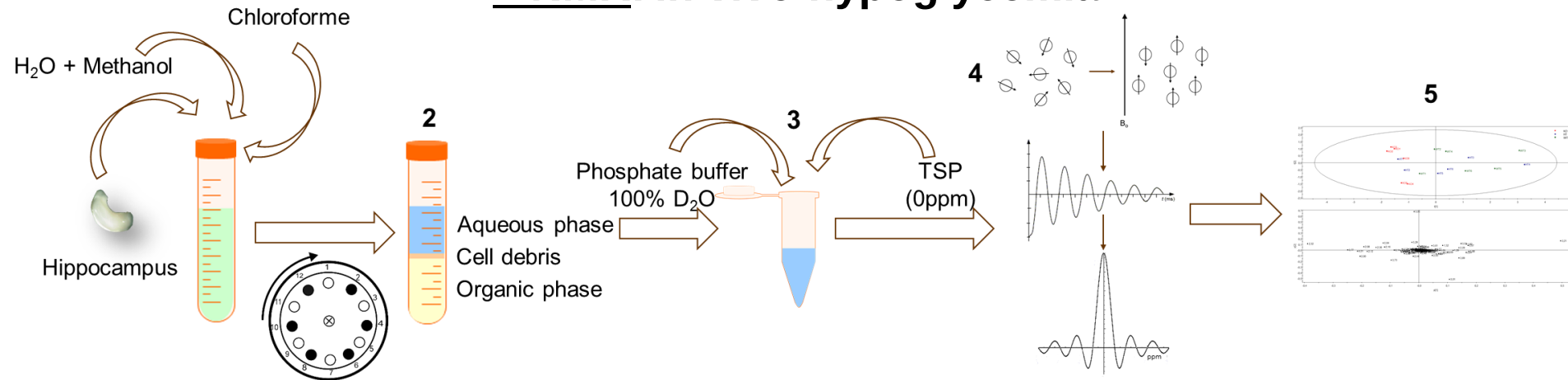
[APP]

What are the effects of a restriction in glucose supply according to the level of **APP** expression ?

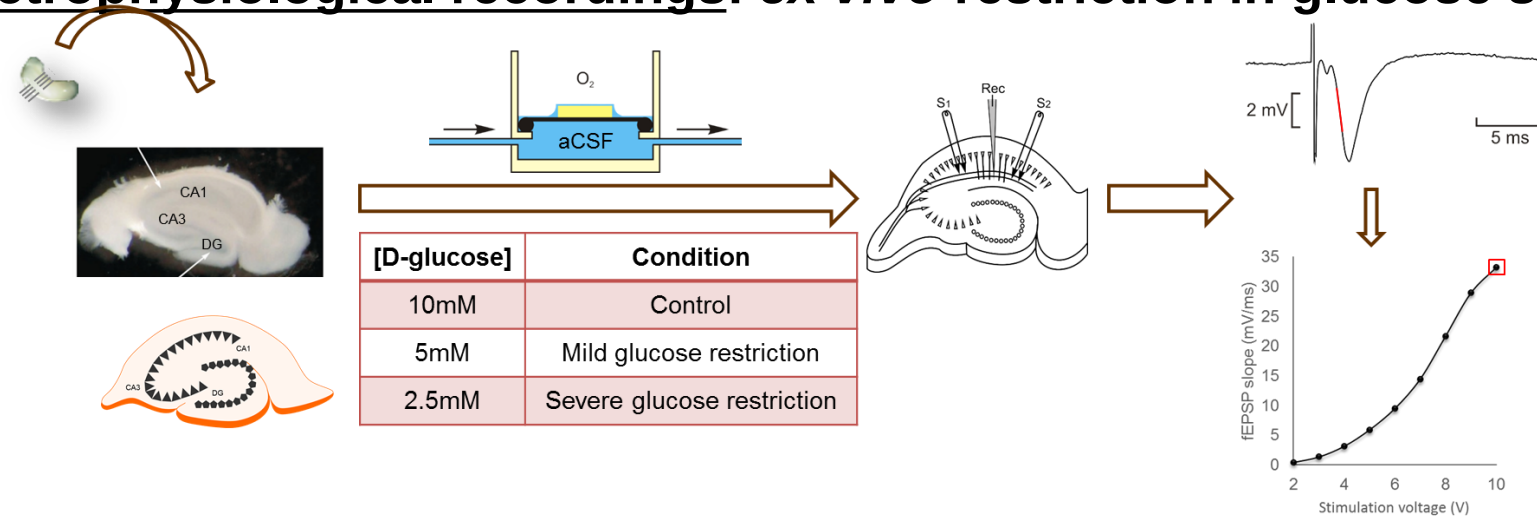


Methods

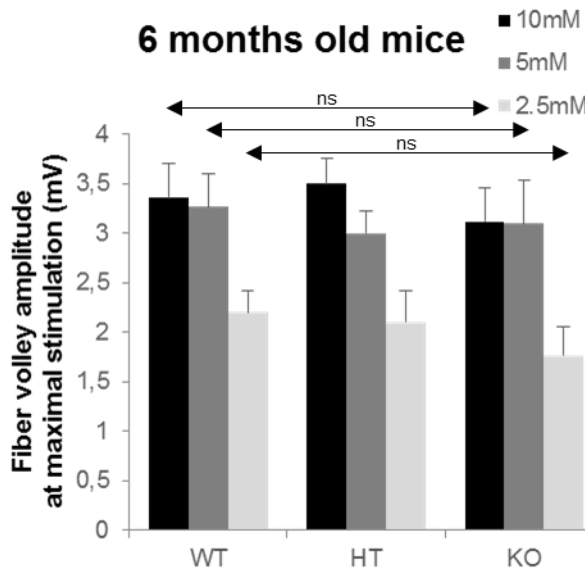
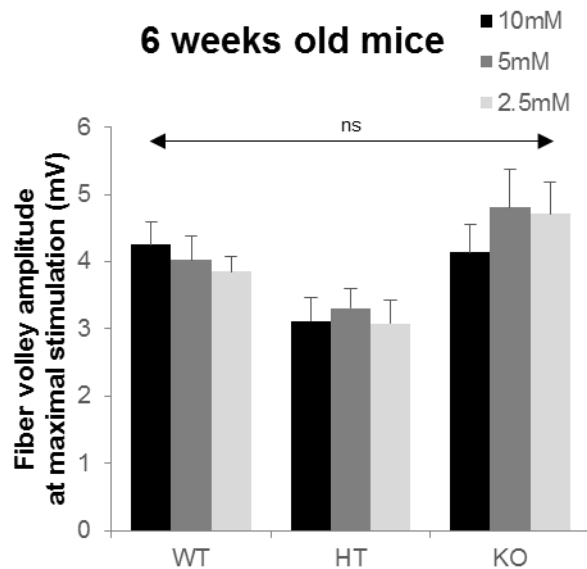
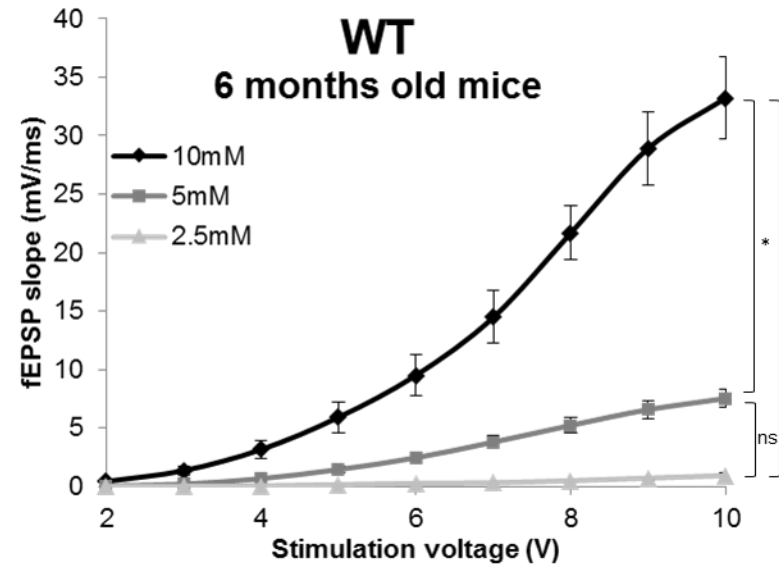
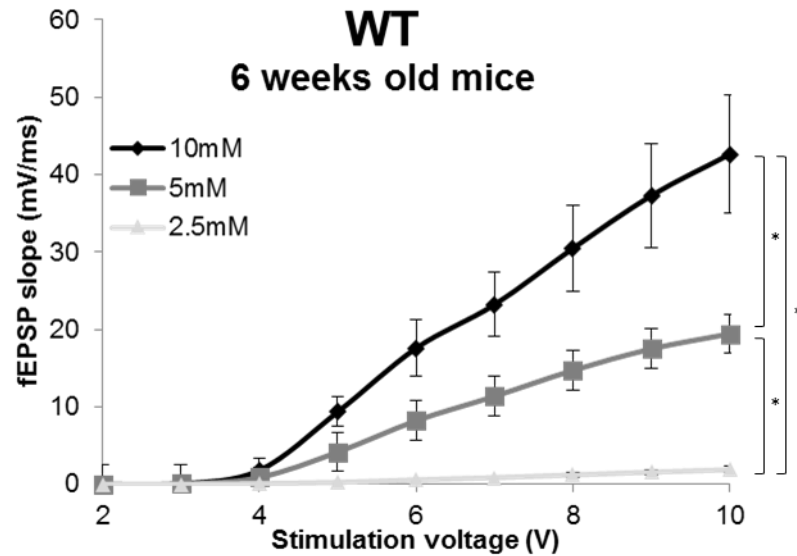
^1H NMR: *in vivo* hypoglycemia



Electrophysiological recordings: *ex vivo* restriction in glucose supply



Effet de la diminution en glucose sur l'activité neuronale



10mM - 5mM	ns	ns	ns
5mM - 2.5mM	*	*	*
10mM - 2.5mM	*	*	*

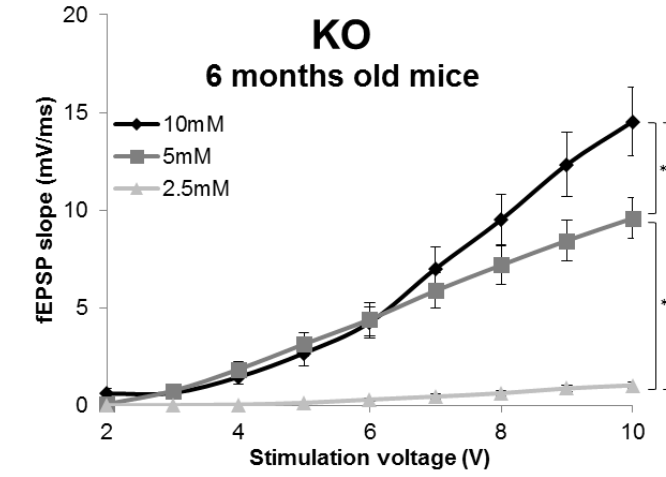
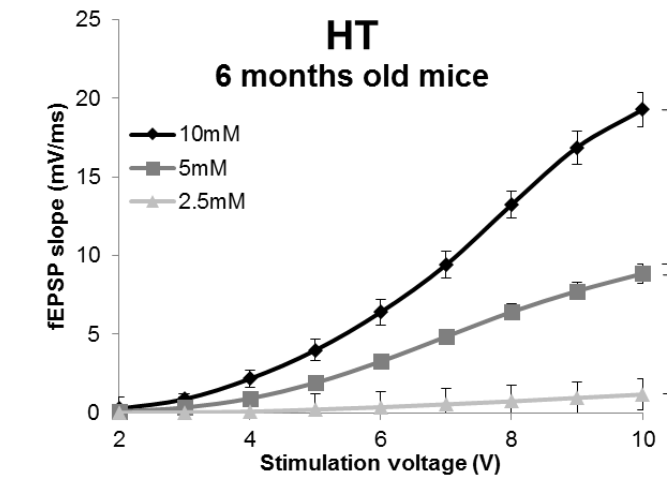
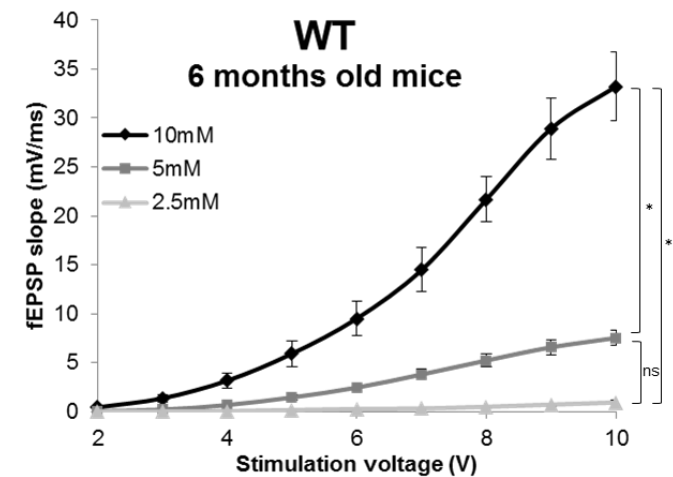
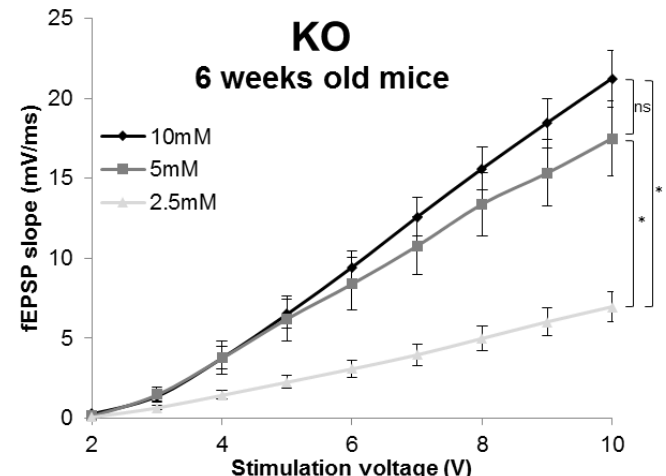
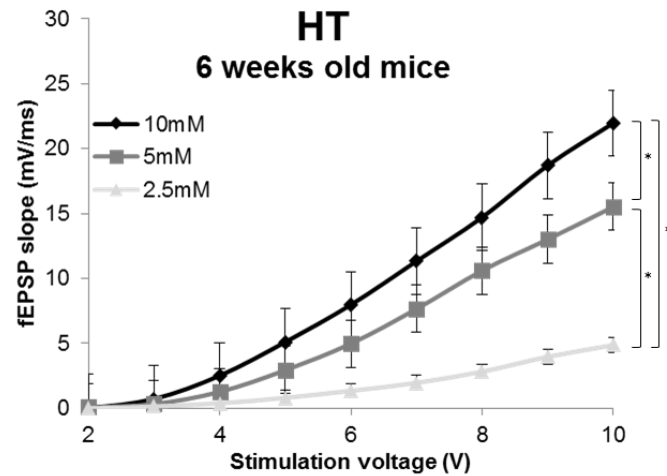
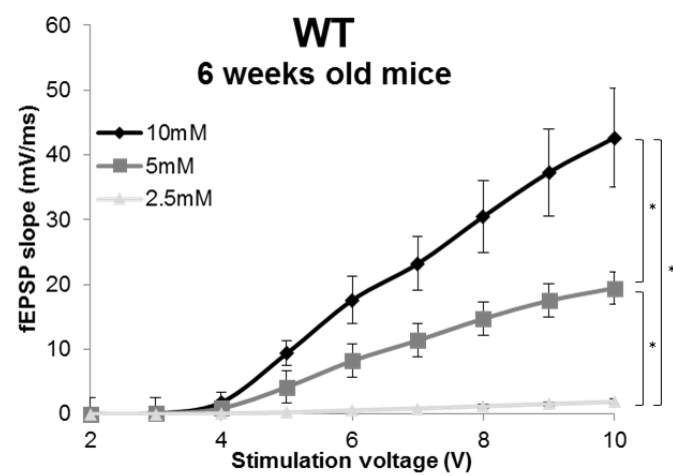
- PPSE 6 semaines : différents
- PPSE 6 mois : différents
- VA 6 semaines : pas différentes
- VA 6 mois : différentes uniquement à 2,5mM !

→ L'excitabilité se maintient mieux lorsque l'apport en glc est réduit (littérature = dernier phénomène touché, après la transmission syn → OK)

Génotype - VA : L'excitabilité n'est pas différente selon les génotypes (même lorsque le glc est réduit)

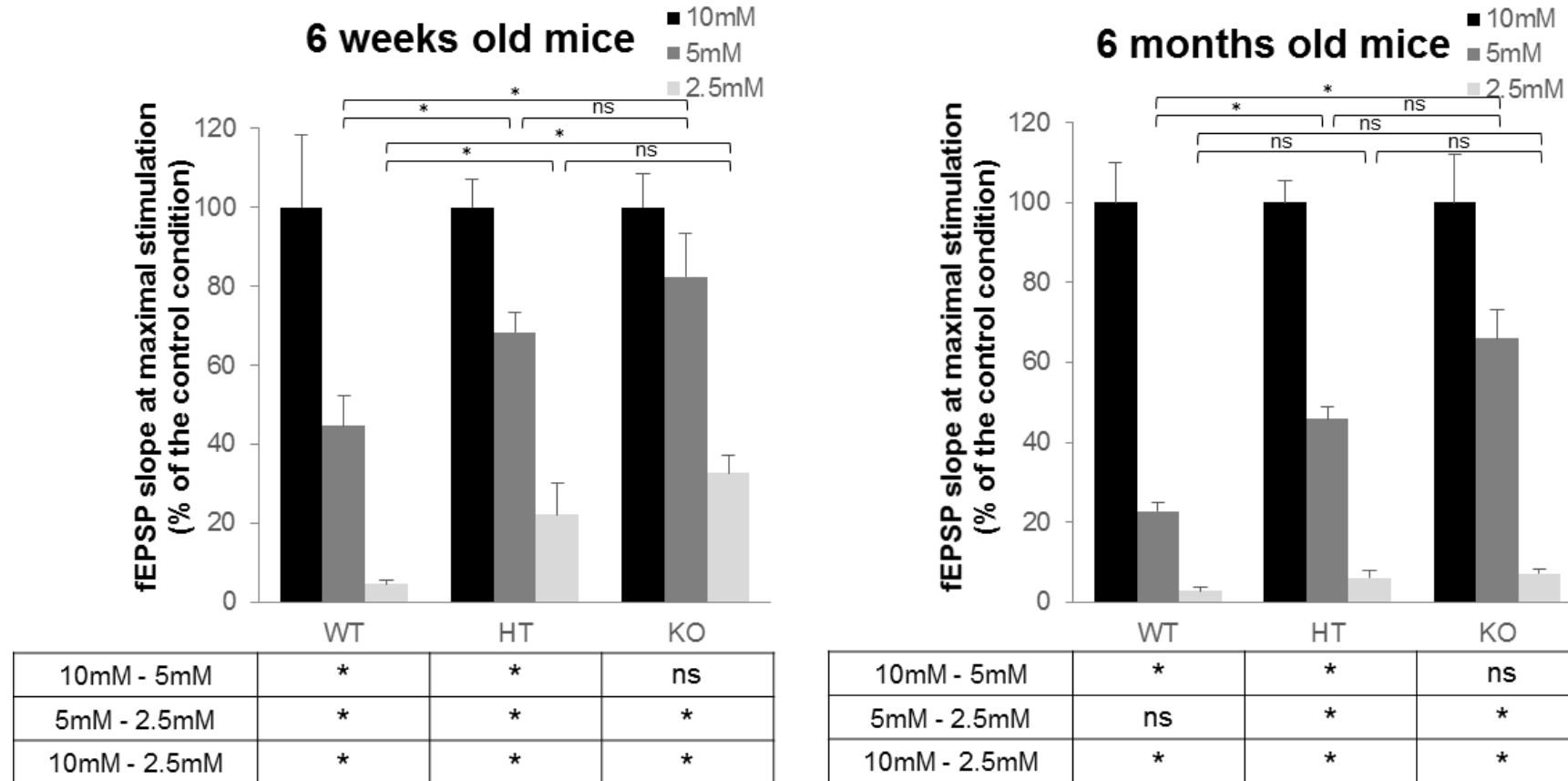
→ C'est au niveau de la fente synaptique que la différence va apparaître !

Remarque au comité: Les PPSE à 10mM ne sont pas différents entre les génotypes !
MAIS ils semblent différents car ils ont été mesurés à travers plusieurs années (WT après changement de matériel) → les WT dont le n est suffisant sont statistiquement plus grand ! Mais si on compare les 3 génotypes au sein d'une même période (n plus petit) : similaires à chaque fois !



Effet du génotype

→ PPSE 10mM similaires → Fixés à 100% pour meilleure comparaison



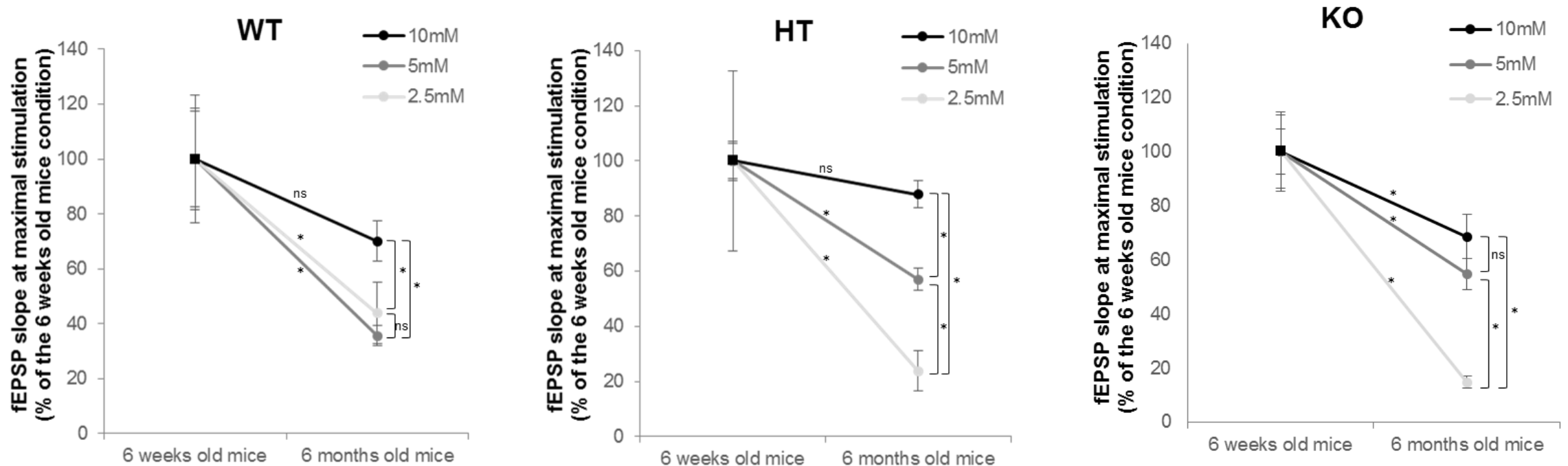
Lien avec les études
métabonomiques !

Lorsque le glucose est réduit, la transmission synaptique est modifiée en fonction du niveau d'expression de l'APP !

L'activité synaptique des KO se maintient mieux !

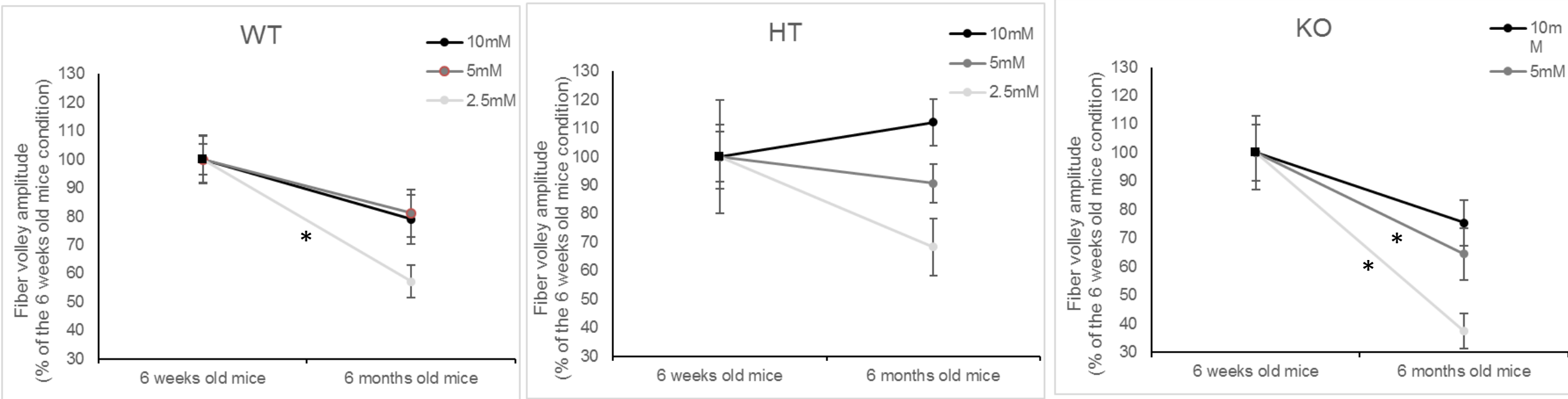
Existence de mécanismes de protection ou hyperexcitabilité (apparition de dérégulations compensées en condition physiologique de glucose ?) ?

Effet du vieillissement sur la transmission synaptique



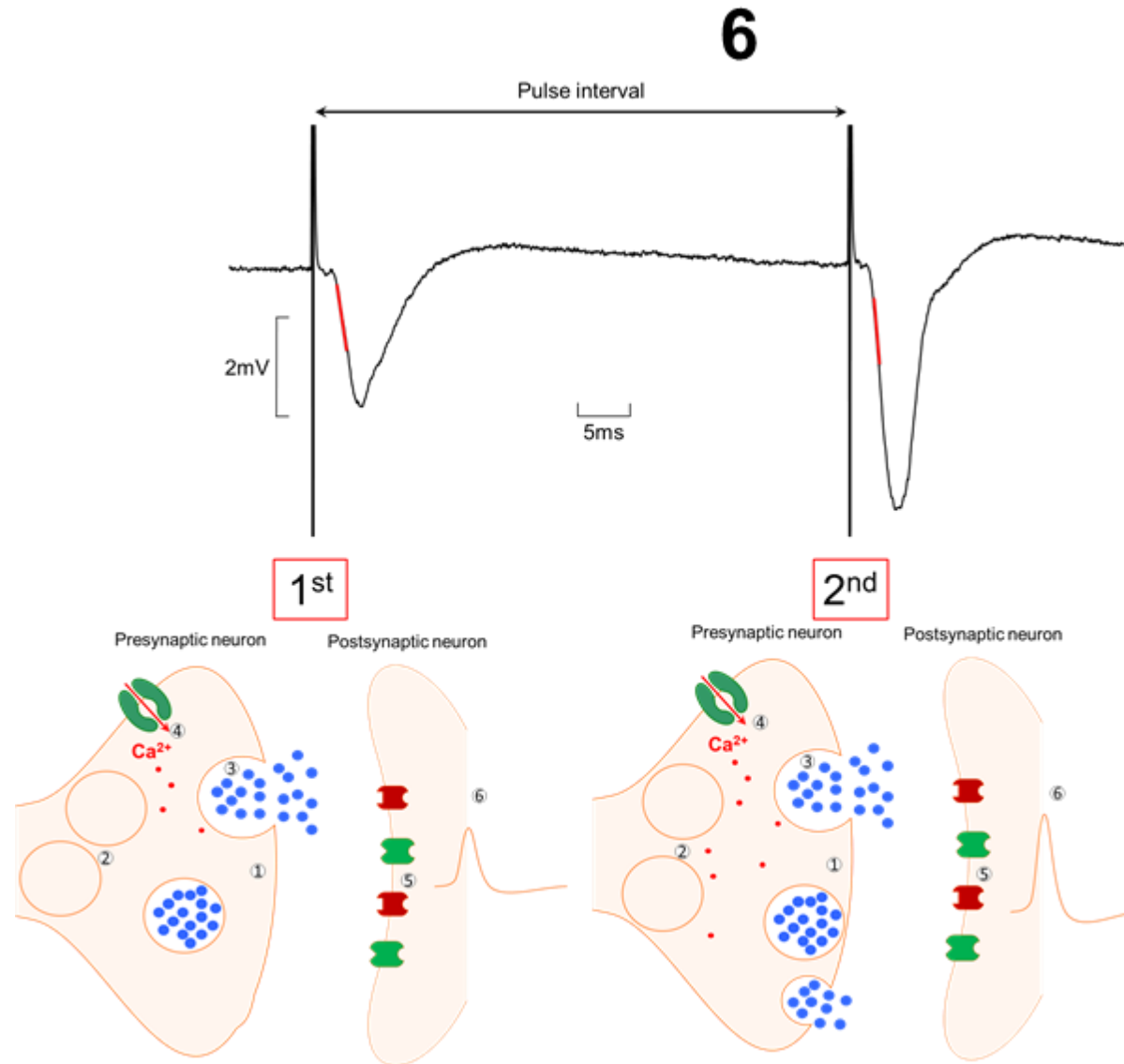
- Diminution de la transmission synaptique (condition contrôle) entre 6 semaines et 6 mois.
 - Différences en fonction du niveau d'APP car la diminution est significative chez les KO uniquement ?
 - La différence est plus forte et significative dans les conditions restrictions en glucose
- Les souris « plus âgées » sont moins résistantes face à la restrictions en glucose

Effet du vieillissement sur l'excitabilité (VA)



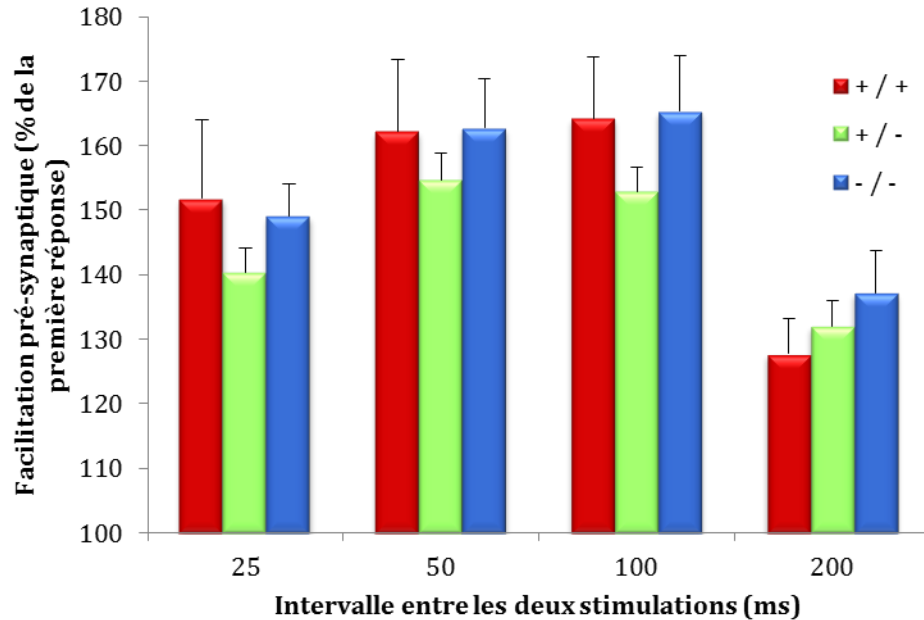
Globalement le même effet mais moins marqué que pour le PPSE → L'excitabilité se maintient mieux avec l'âge et la diminution en glc

Effet du génotype sur la transmission pré-synaptique (paired pulse facilitation)



Effet du génotype sur la transmission pré-synaptique (paired pulse facilitation)

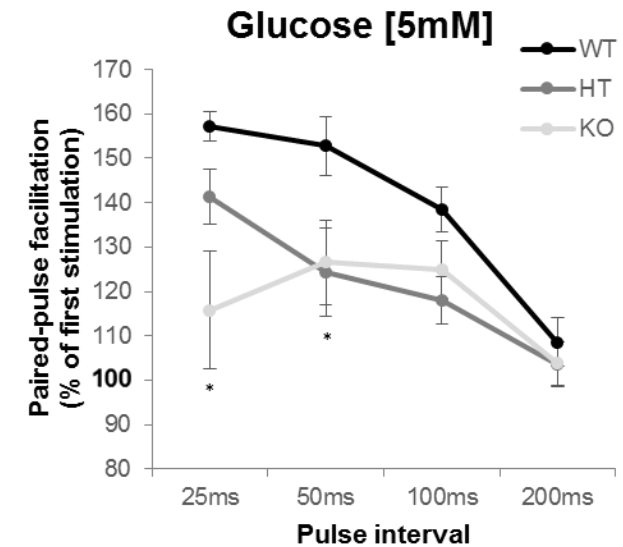
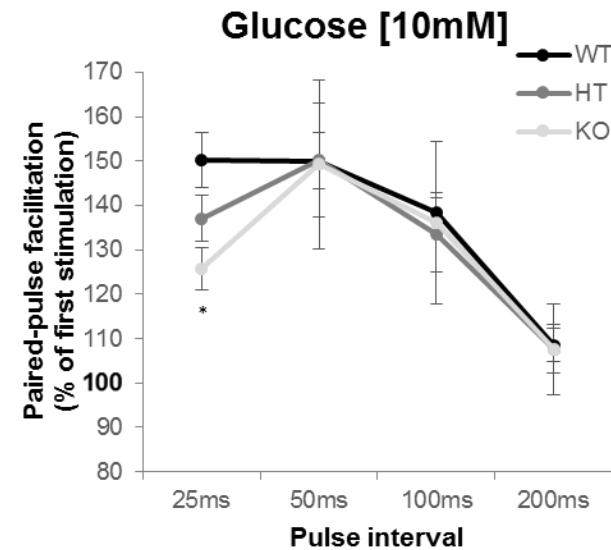
Mémoire – souris sacrifiées à maximum 12 semaines (moins précis); 4mM



Transmission pré-synaptique plus faible chez les souris KO pour l'intervalle de 25ms
Cette perturbation n'apparaît que chez les souris plus âgées !

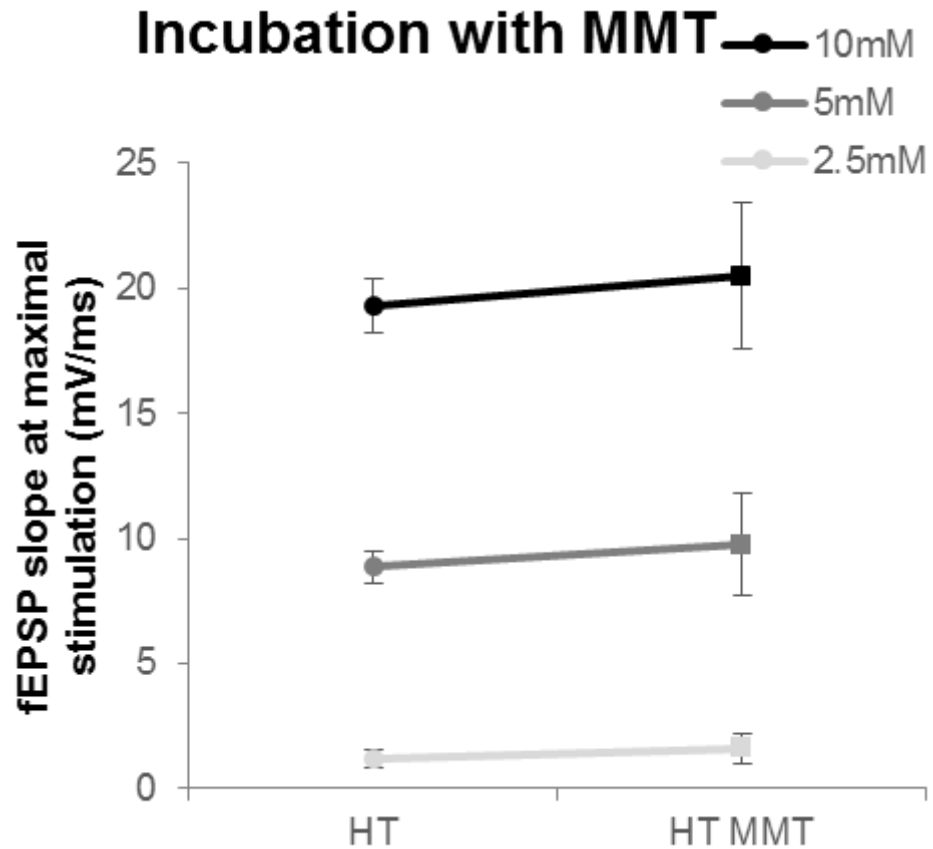
→ Problème de flux calcium, de chélation du calcium, docking des vésicules... ? « Re-remplissage" en glutamate ?

6 mois - thèse



Effet de drogues sur la transmission synaptique : Mémantine

6 mois uniquement

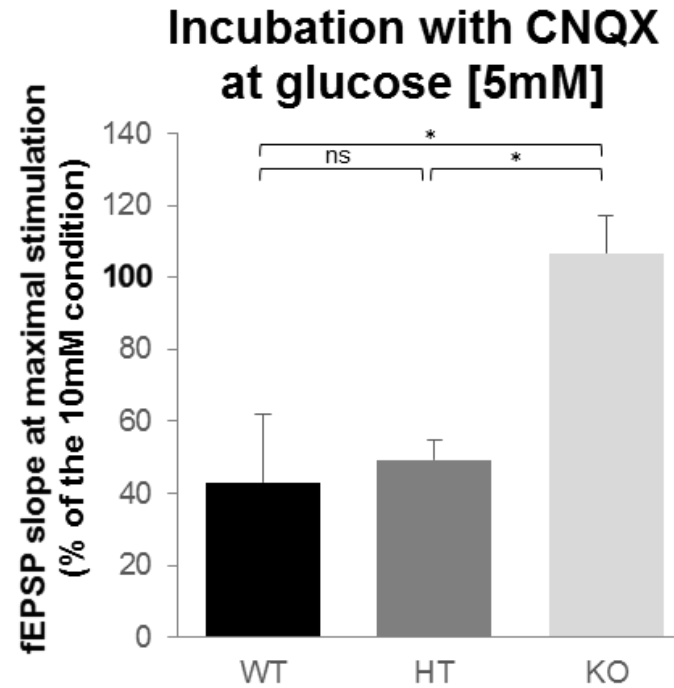
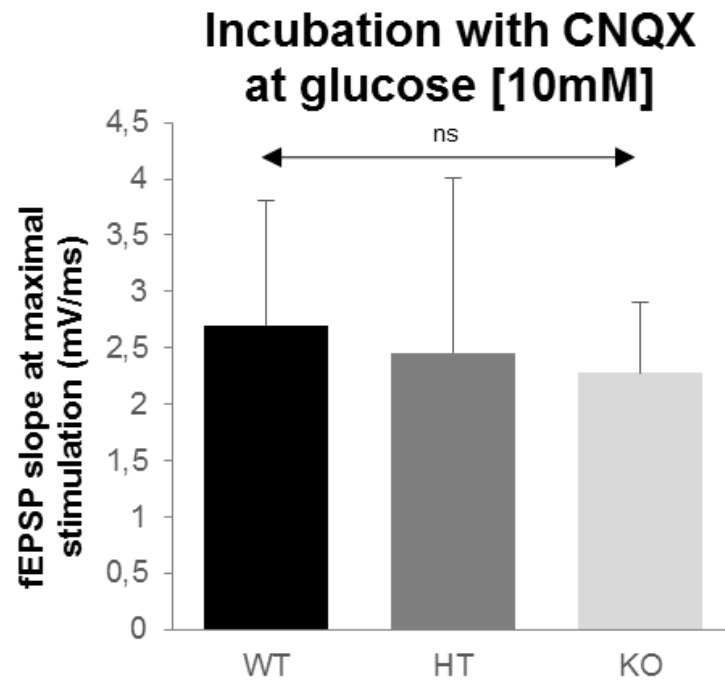


Mémantine = antagoniste des récepteurs NMDA
→ Enregistrement **des potentiels AMPA** (et GABA)

→ Pas de différence dans les potentiels AMPA chez les HT

Potentiels principaux en absence de drogue → OK

Effet de drogues sur la transmission synaptique : CNQX



CNQX + 0 Mg^{++} = Blocage des récepteurs AMPA et kainate + déblocage des récepteurs NMDA

→ Enregistrement des potentiels NMDA

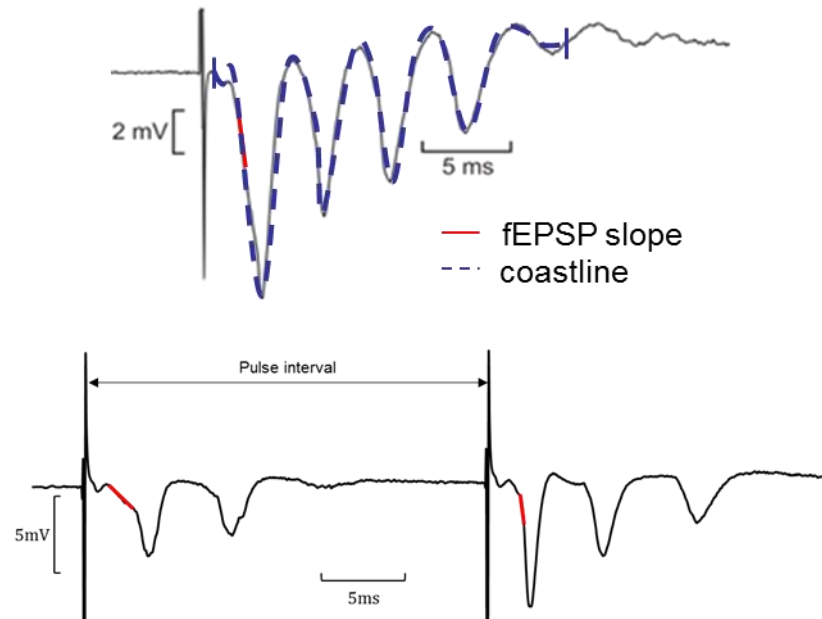
→ Une différence apparait au sein des génotypes lorsque l'apport en glucose est réduit

→ Chute de 50-60% des potentiels NMDA à 5mM chez WT et HT mais 0% chez les KO

Effet de drogues sur la transmission synaptique : Picrotoxine

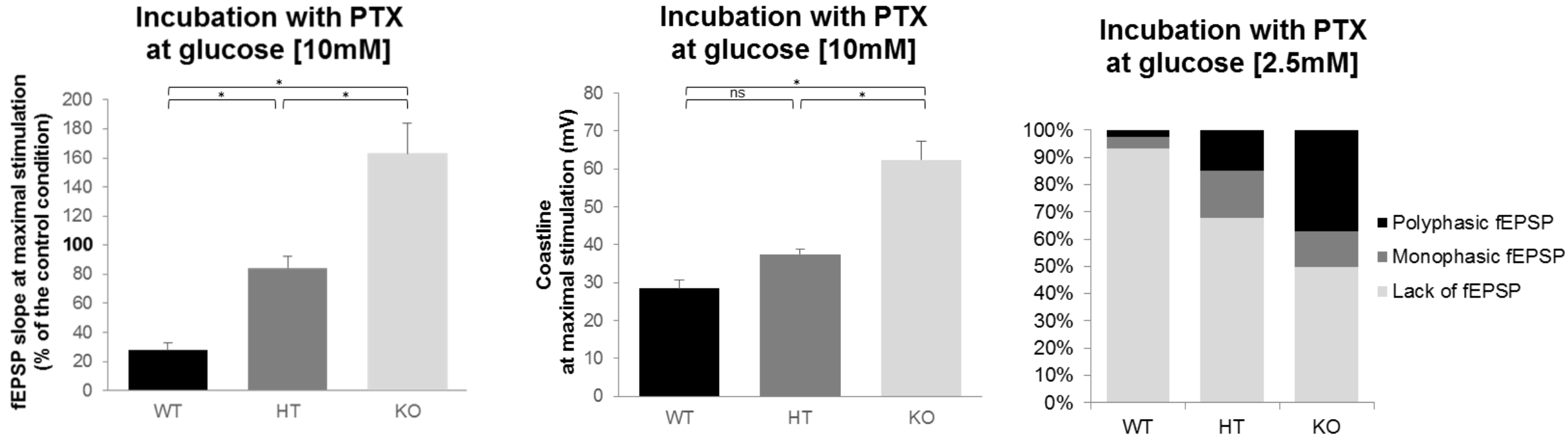
Déjà présenté au **comité**

Picrotoxin 100 μ M



Antagoniste des récepteurs GABA_A →
Inhibition de l'inhibition

Effet de drogues sur la transmission synaptique : Picrotoxine

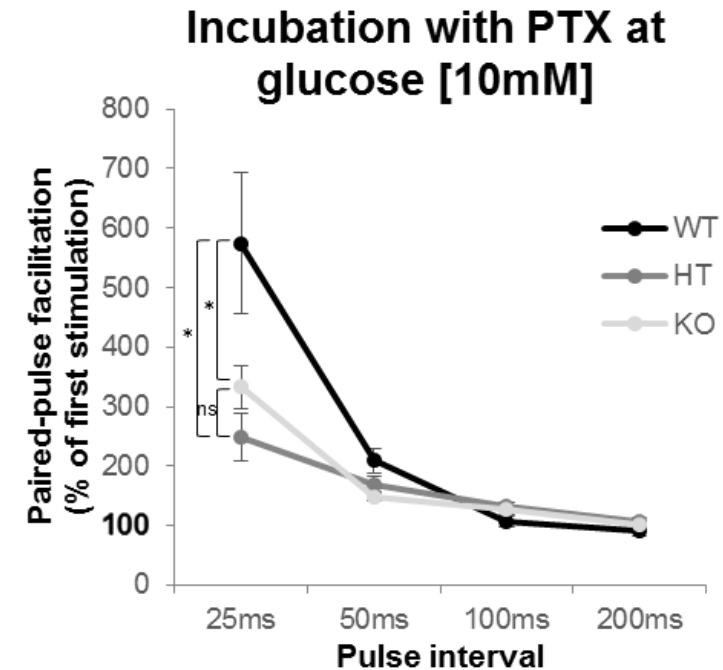
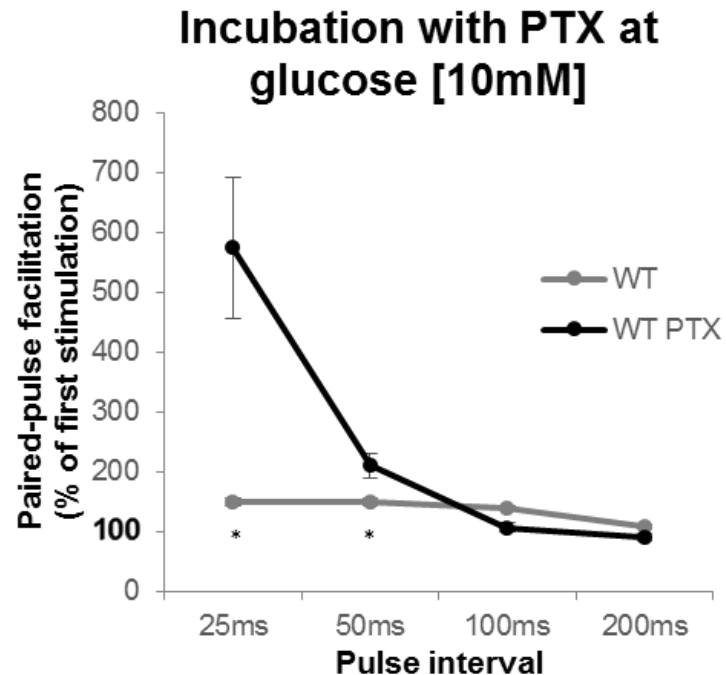


Hypothèse 1 : Déclenchement de boucles épileptiques (dans le circuit trisynaptique) plus forte chez les KO ?

Problème : n'explique pas le phénotype WT

Hypothèse 2 : Silence synaptique chez les WT. Se produit lorsque l'épilepsie est trop forte. L'épilepsie devrait être plus forte chez les WT ! (D'après d'autres résultats : métabonomique et WB) → - de gaba et de récepteurs GABA_A chez les KO

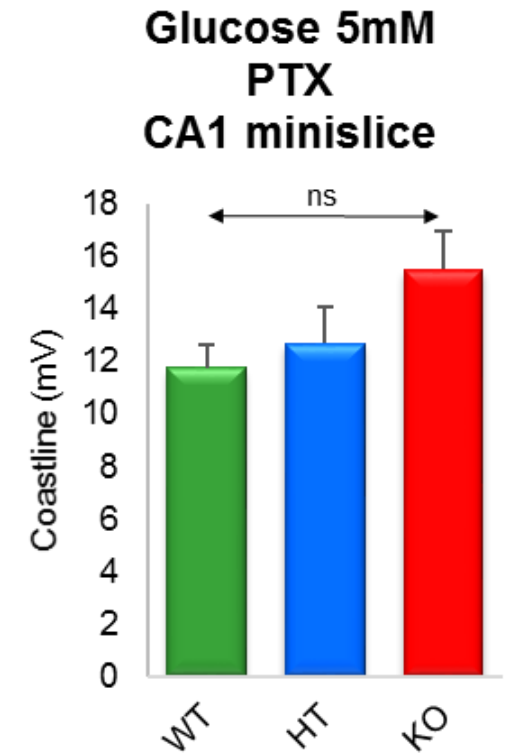
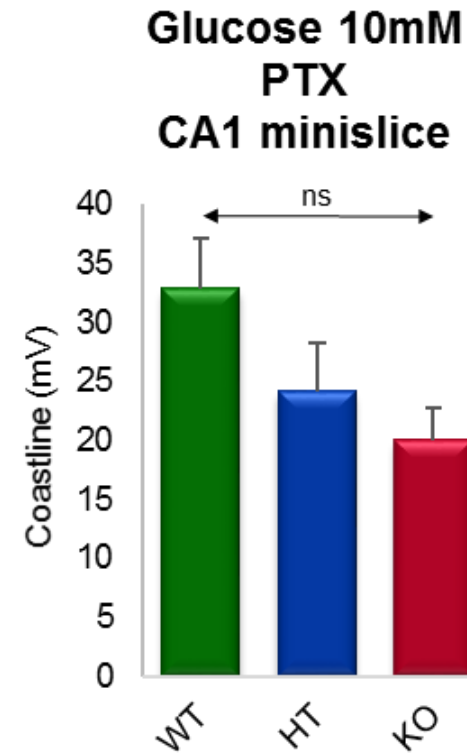
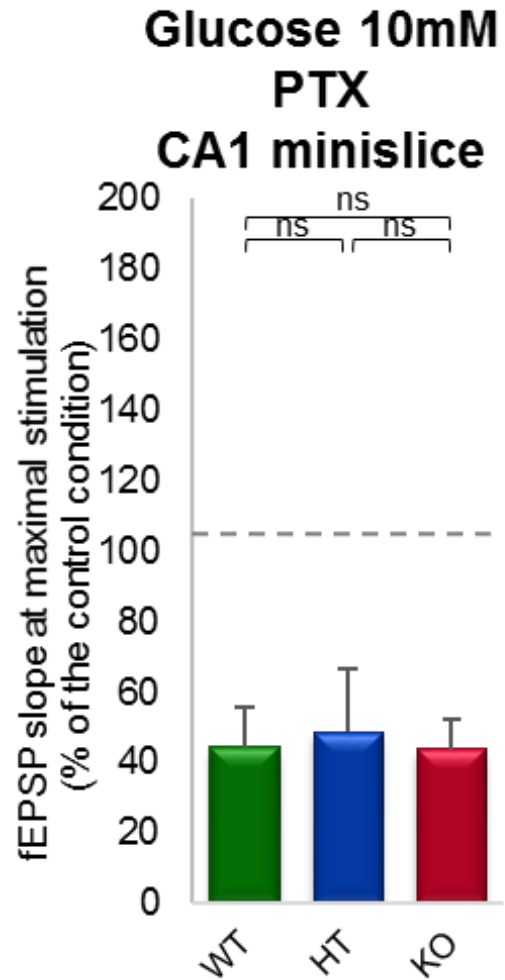
Effet de drogues sur la transmission synaptique : Picrotoxine sur la transmission pré-synaptique



Epilepsie → Entrée forte de calcium → Augmentation de la facilitation
Le facteur « calcium résiduel » est plus important à 25ms → OK

Les KO ont une facilitation inférieure → On retrouve cette diminution du PPF déjà observée sans drogue

Réalisation de mini-tranches pour diminuer les boucles épileptiques causées par la picrotoxine



Les PPSE et les coastlines ne sont plus supérieurs chez les souris KO

40% : Mini-tranches sans picrotoxine non réalisées

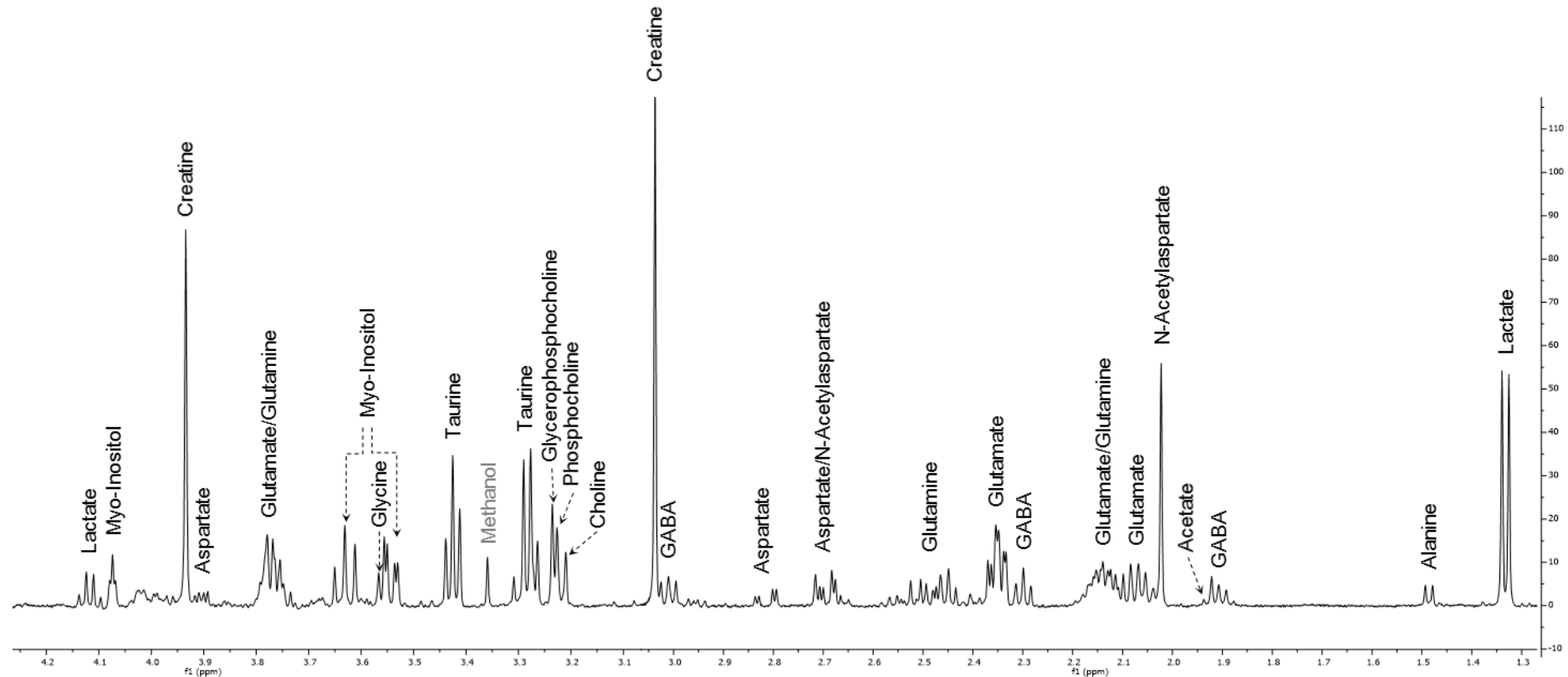
Réalisation de mini-tranches pour diminuer les boucles épileptiques causées par la picrotoxine

La facilitation présynaptique est toujours augmentée dans les minislices (résultat présenté en dia 16)

^1H NMR

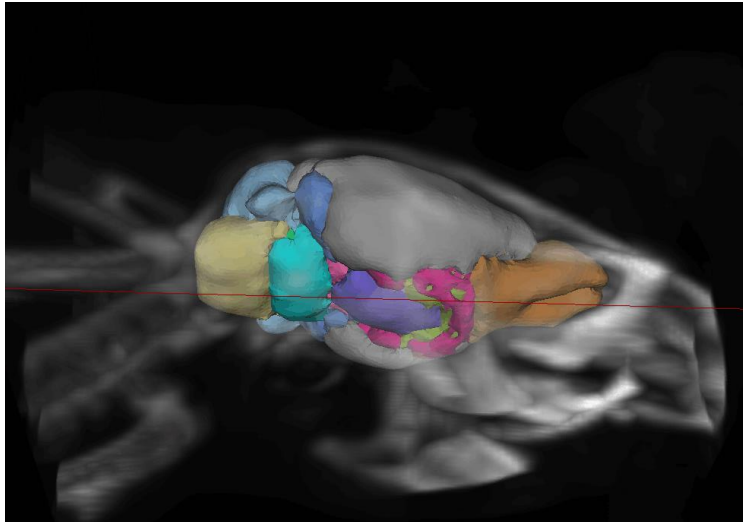
Control condition

Identification of aqueous metabolites detectable on a ^1H NMR spectrum obtained from the extraction of APP KO mouse hippocampi



Area under the curve (0.04ppm) $\rightarrow$ PCA

^{18}F FDG PET-Scan



Hexokinase

Glucose $\longrightarrow$ Glucose-6-phosphate
 ^{18}F -FDG $\longrightarrow$ Fluorodésoxyglucose-6-phosphate

Bloqué à cette étape de la glycolyse et dans la cellule

^{13}C NMR: [1- ^{13}C]glucose and [2- ^{13}C]acetate

